放射菌與洋菇及堆肥中幾種微生物間生長關係之研究

胡開仁　　宋細福　　徐美媛

摘　　要

為了解洋菇堆肥製作及後醱酵期間常可發現之一種白色粉狀放射菌 *Micromonosporus* sp., 與洋菇 *Agaricus bisporus* 及堆肥中常見有害於洋菇菌絲生長之 *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Chaetomium* sp., *Fusarium* sp., 等幾種菌類間的生長關係，以作為今後洋菇堆肥製作改進之參考，乃於堆肥製作醱酵期中純粹分離培養出一種放射菌。

將此放射狀菌與洋菇 (*Agaricus bisporus*) 及堆肥中常見有害於洋菇生長之 *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Chaetomium* sp., *Fusarium* sp. 等幾種菌類，作菌絲生長及胞子發芽等關係之研究，發現本試驗之放射菌確實能促進洋菇菌絲生長，而對其他供試菌類之菌絲有抑制生長的作用，其中尤以對 *Trichoderma* sp. 之抑制生長作用最强。又供試各菌類胞子在放射菌層上作發芽試驗結果，發現在 25°C 下， 10 天內一般發芽率均低，但在 PDA 培養基 (ck) 上培養者，則 2天內即有 90 %以上發芽率，且菌絲蔓延極速，故若能將此放射菌在堆肥中大量繁殖並妥加利用，深信對洋菇病害之預防必收宏效。

前　　言

洋菇堆肥調製之好壞，對洋菇子實體之形成與品質有直接影響。在堆肥調製醱酵期間，微生物相之變化與消長為決定洋菇堆肥品質重要因素之一。微生物種類不同，在堆肥調製醱酵期間分解所得之代謝物亦不同，有對洋菇生長有益者，但亦有有害者，故在堆肥製作與後醱酵時對微生物種類之選擇與控制至為重要。

一般實施洋菇堆肥後醱酵，其主要目的在於減少或消除在低溫下生長之有害病菌；欲使在堆肥後醱酵之數日間能大量增殖高溫生長之有益菌類，除應備有適當的營養及環境條件外，尚須有足夠的有益菌原方能達到目的，而此等大量需要的有益菌原，過去僅賴堆積醱酵期間之天然菌原，故對微生物種類無法控制，而致堆肥品質往往不如理想。今後若能以人工接種方法接種菌原，使堆肥在醱酵期間能大量產生所需之某些有益菌類，則對今後控制堆肥品質必有所助益。為此筆者曾在洋菇堆肥堆積醱酵期間，分離一種白色粉狀之放射菌 (*Micromonosporus* sp.)，經初步試驗發現對洋菇生長有益，進而研究該菌與堆肥中對洋菇生長有害菌類間之關係及其應用，以供今後改進堆肥製作之參考。

材料及方法

供試菌類如下：

（1） *Micromonosporus* sp.為在洋菇堆肥醱酵期間分離所得。

（2） *Penicillium* sp.,*Trichoderma* sp.,*Fusarium* sp., *Chaetomium* sp. 為在菇床上分離所得。

（3） *Agaricus bisporus* 54—7 係目前推廣之洋菇品種。

本試驗分為下列四項進行：

（1） 供試菌類在放射菌層上生長勢之比較

取 20cc 無菌水倒入試管內純粹培養之放射菌中，用白金耳緩緩將該放射菌刮於無菌水中，再倒

入另一經殺菌之試管內，充分振盪使成均勻的菌體懸浮液，然後取懸浮液 1cc 滴置於四角瓶 P D A（馬鈴薯 200gr, 糖 20gr, 洋菜粉 20gr 水 1000cc）培養基上，使其均勻散佈在培養基之表面上，置於 45°C下 定溫培養 24 小時及 48 小時兩種處理，使其在培養基表面形成一層白色放射菌之菌層，然後將在小麥粒培養基上培養之 *Agaricus bisporus* 及 *Penicillium* sp., *Chaetomium* sp., *Trichoderma* sp. 及 *Fusarium* sp. 等菌類之菌絲，各取一粒接種於培妥之放射菌菌層中央，各作 4 重複，並以不培養放射菌之 P D A 培養基爲對照，置於 25°C 定溫培養，定期調查各供試菌類生長發育之情形（如表一、二）。

（2） 放射菌對供試菌類之生長阻礙測定

以白金耳沾取放射菌懸浮液一耳，輕輕橫劃一線在培養皿 P D A 培養基上，在 45°C 下經48小時定溫培養後，即可在劃線處明顯地長出一條白色之放射菌菌落，再用白金耳取供試之 *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Chaetomium* sp., *Fusarium* sp. 等菌類胞子懸浮液，各別在該放射菌條狀菌落下相連處縱劃一線，置於 25°C 定溫培養，另以不劃線之放射菌爲對照，3 天後觀察生長情形（如圖一）。本試驗因洋菇菌絲生長較其他 4 種供試菌類遲緩，無法用同一培養皿同時進行比較，故在另四角瓶 P D A 培養基上，將放射菌劃成 ⊢字形（如圖二），亦在 45°C 下經 48 小時定溫培養後取出，在圖二 A, A′ 兩處各接一粒麥粒純粹培養之洋菇菌種，置於 25°C 定溫培養 10 天後觀察其生長情形（如圖二）。

（3） 洋菇菌絲與供試菌類在放射菌層上生長間之相互關係

在 45°C 經 24 小時培養後之放射菌菌層上，將預先在小麥培養基上培養好之 *Penicillium* sp., *Chaetomium* sp., *Trichoderma* sp. 及 *Fusarium* sp. 等 4 種菌類之菌絲，分別在與洋菇菌絲相距 3cm 遠處接種一粒小麥粒培養之菌絲，各作 4 重複，並以不培養放射菌之 P D A 爲對照，置於 25°C 定溫箱內培養，每日調查洋菇菌絲與上述 4 種菌類在放射菌菌層上生長之相互關係（如圖三）。

（4） 供試菌類胞子在放射菌層上之發芽率測定

取1cc 放射菌體懸浮液，滴置於培養皿 P D A 培養基上，稍搖動，使其均勻散佈在培養基之表面，並放置在 45°C 經 48 小時的定溫下培養，使培養基表面上長滿白色之放射菌體，然後再將 *Penicillium* sp., *Chaetomium* sp., *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp. 等之胞子懸浮液，分別滴置於同一培養皿之放射菌菌層上（如圖四），計作四重複，並以殺過菌之白金耳塗抹，使供試菌類之胞子均勻散佈，並密接於該菌層約直徑 2cm 左右面積上，即以 28°C 定溫培養，另外以不培養放射菌之 P D A 培養基上之純粹培養作爲對照，在顯微鏡下每日各調查 400 個胞子，計算發芽率。

試 驗 結 果

1. 供試菌類在放射菌層上生長勢之比較

本試驗將放射菌在 45°C 定溫下經 24 小時及 48 小時兩種培養處理，其結果分列如表一、二。

表 1. 45°C，24 小時培養之放射菌層上各供試菌類生長勢之比較（cm）

Table 1. Growth comparison among the test fungi on *Micromonosporus* sp. colony layer after 24 hrs. cultivation in 45°C (cm).

菌類代號		調查日期（天）						
		2	4	6	8	10	12	14
A	EX	1.31	1.92	2.53	4.95	5.60	6.32	7.15
	CK	1.43	1.95	2.48	3.90	4.40	4.82	5.25

C	EX	1.85	2.65	3.87	5.45	7.12	—	—
	CK	2.50	4.61	6.80	—	—	—	—
T	EX	2.80	5.62	—	—	—	—	—
	CK	3.20	6.00	—	—	—	—	—
F	EX	2.24	4.78	6.99	—	—	—	—
	CK	2.35	4.75	6.96	—	—	—	—
P	EX	1.40	2.42	4.40	5.25	6.18	6.96	7.66
	CK	1.80	3.10	4.45	5.38	6.21	7.05	7.84

註：A:*Agaricus bisporus*　C:*Chaetomium* sp.
T:*Trichoderma* sp.　F:*Fusarium* sp.
P:*Penicillium* sp.　EX:試驗組（有放射菌層）
CK:對照組　—：菌落長滿不再調查

由表1.觀察得知放射菌在 PDA 培養基上經 24 小時 45°C 定溫培養，對洋菇菌絲有促進生長之趨勢，而對上述供試有害菌均稍有抑制生長之現象。

表2. 45°C, 48 小時培養之放射菌層上各供試菌類生長勢之比較（cm）

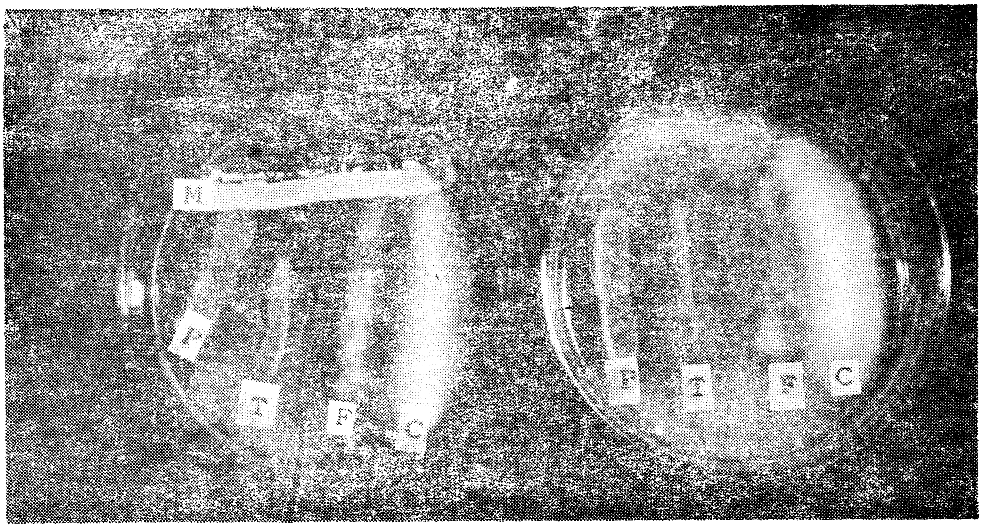
Table 2. Growth comparison among the test fungi on *Micromonosporus* sp. colony layer after 48 hrs. cultivation in 45°C (cm).

菌類代號		調查日期（天）			
		2	3	4	5
A	EX	1.58	1.73	1.95	2.00
	CK	1.35	2.50	2.93	3.34
C	EX	±	±	±	1.10
	CK	2.42	3.80	4.59	5.26
T	EX	±	±	±	1.00
	CK	6.34	8.00	—	—
F	EX	1.15	1.15	1.23	1.35
	CK	2.13	3.75	4.44	5.91
P	EX	±	±	±	1.34
	CK	1.73	2.38	2.53	3.03

註：（1）A. C. F. P. T. EX. CK. 與表1代號同
（2）±：未長菌落

2.放射菌對供試菌類之生長阻礙測定

本試驗經劃線培養3天後觀察結果，各供試菌類均無法越過放射菌之範圍，明白顯示生長受阻現象，其中尤以 *Trichoderma* sp. 所受到之抑制最大（如圖一、左第二條縱線）。而所設之對照區（CK)，，各供試菌類生長皆一致，其中尤以 *Trichoderma* sp. 生長最旺（圖一、右第二條縱線）。洋菇菌絲在四角瓶內，以放射菌卜字形劃線測定結果，發現右邊（A′）有放射菌線者，於洋菇菌絲接近時反而比左邊無放射菌線者生長爲快，足見放射菌對洋菇菌絲非但無阻礙生長的現象，反而有促進生長的趨勢。茲將接種10天後生長所攝照片示之如圖二。

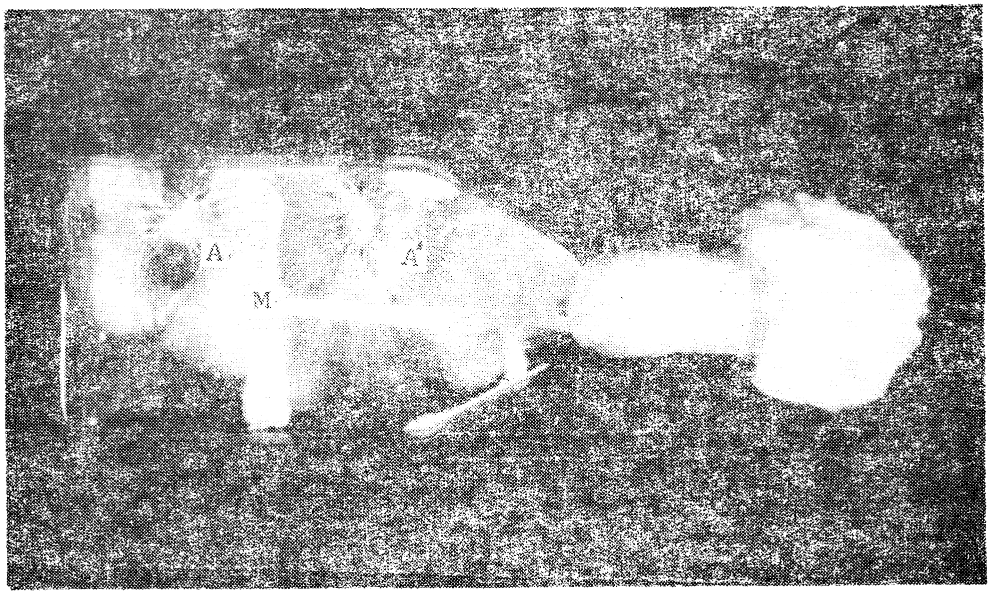


圖一　放射菌對各供試菌類生長阻礙之測定

Fig. 1. The measurement of the retardation of *Micromonosporus* sp. to the test fungi

註：（1）M：示放射菌處理　　　CK：對照

（2）P. T. F. C. ：示供試菌類 *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., *Chaetomium* sp.



圖二　放射菌 ⊢形劃線對洋菇菌絲生長之影響

Fig. 2. The influence of ⊢ shape inoculation of *Micromonosporus* sp. on the growth of mushroom mycelia.

註：（1）A, A'：示洋菇菌絲接種處

（2）M：示放射菌 ⊢形劃線菌落。

3. 洋菇菌絲與供試菌類在放射菌層上生長之相互關係。

本試驗將供試菌類分別接種在培養之放射菌層上（EX）及 P D A 培養基上（CK），經一週及三週後，觀察其結果（圖三）。

（1）洋菇本身間菌絲生長之相互關係；本試驗組在放射菌層（EX）與 P D A 培養基上（CK）所呈現情形皆爲一致，在同一條件下培養一週內觀察兩菌落間除有少部分菌絲外，大致均有距離，但至第三週後觀察菌絲則全部互相密合爲一菌落（如圖三 A, A′ 組）。

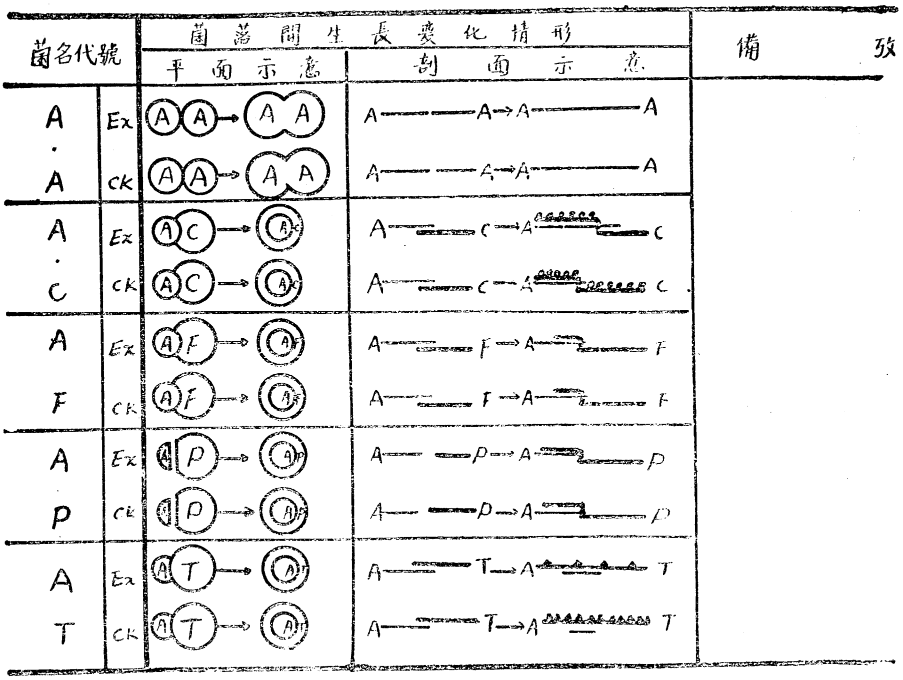
（2）洋菇與 *Chaetomium* sp. 間菌絲生長之相互關係

本試驗在第一週內觀察時，在放射菌層及 P D A 培養基(CK)上之洋菇菌絲均可覆蓋於*Chaetomium* sp. 之菌落上，但至三週後因洋菇菌絲生長較慢，致反被*Chaetomium* sp. 菌絲全部包圍覆蓋，而形成生長受阻現象。同時顯示 *Chaetomium* sp. 之子囊果形成情形，在放射菌層與對照組(CK)上頗有出入，即在放射菌層上之 *Chaetomium* sp. 菌絲中很難觀察到有子囊果之存在，但在覆蓋於洋菇菌落上的 *Chaetomium* sp. 菌絲中可發現子囊果之形成。而 P D A 培養基(CK)上培養者，不論在培養基上或洋菇菌落上生長之 *Chaetomium* sp. 菌絲中皆可形成大量之子囊果(如圖三 A, C 組)。

（3）洋菇與 *Fusarium* sp. 間菌絲生長之相互關係

在第一週內觀察時，洋菇菌絲生長在放射菌層及 P D A 培養基（CK）上之洋菇菌絲均可覆蓋於 *Fasarium* sp. 之菌落上，但到第三週後洋菇之菌落亦反被 *Fusarium* sp. 之菌絲全部包圍，甚而被覆蓋，致影響洋菇菌絲之發育生長（如圖三 A, F 組）。

（4）洋菇與 *Penicillium* sp. 間菌絲生長之相互關係



圖三　供試菌落生長間之相互關係示意圖

Fig. 3. Figures show the growth relationship between the test colonies.

註：1. A. C. F. P. T. CK 與表1, 2二代號同。

2. 0000：代表 *Chaetomium* sp. 之子囊果生長情形。

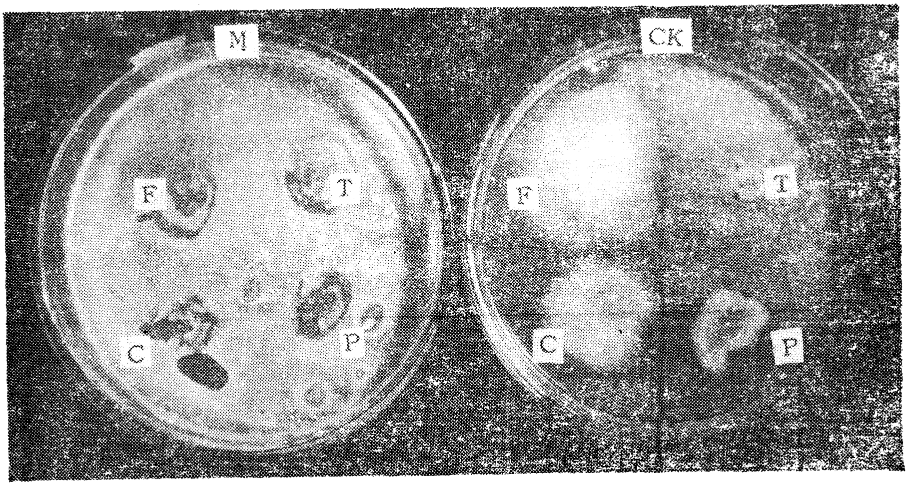
3. ▲▲▲▲：代表 *Trichoderma* sp. 之胞子層多少及顏色濃度。

在第一週內觀察時，洋菇與 *Penicillium* sp. 菌落在放射菌層及 P D A 培養基（CK）上二者均有明顯的拮抗現象（Antagonism），但到第三週後洋菇菌落逐漸被 *Penicillium* sp. 菌絲所包圍，甚而被覆蓋（如圖三 A, P組）。

（5）洋菇與 *Trichoderma* sp. 菌絲生長之相互關係 *Trichoderma* sp. 菌絲生長在放射菌層及 P D A 培養基(CK)上，均可覆蓋於洋菇之菌絲上， 5天後洋菇菌絲即全部被 *Trichoderma* sp. 菌絲所覆蓋，以致不見有洋菇菌落之存在，到 10 天後觀察 *Trichoderma* sp. 在 P D A 培養基上可發現大量濃青色之孢子層，而在放射菌層者則發生量甚少，且顏色極淺（如圖三 A,T 組）。

4.供試菌類孢子在放射菌層上之發芽率

每天鏡檢各供試菌類胞子萌芽情形，在放射菌層上10天內很少有發芽現象，而在 P D A 培養基上（CK），3 天內幾乎全部發芽。本試驗供試菌類孢子懸浮液塗佈於培養之放射菌層上，經 5 天後檢視孢子發芽情形如表 3 及圖 4。



圖四　放射菌對供試菌類孢子發芽及菌絲生長抑制之情形

Fig. 4. The retardation of spore germination and mycelium growth of the test fungi by *Micromonosporus* sp.

表 3. 供試菌類胞子於放射菌層及 P D A 培養基上之發芽率（%）

Table 3. Spore germination percentage of test fungi on the colony layer of *Micromonosporus* sp. on PDA media.

菌類代號	調	查		日			期		（天）	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C EX	—	—	—	—	0.25	0.75	3.00	3.50	5.00	12.00
C CK	36.00	84.50	94.00	+	+	+	+	+	+	+
T EX	—	—	—	—	—	0.50	1.00	5.50	8.00	15.00
T CK	76.50	95.00	+	+	+	+	+	+	+	+
F EX	—	—	—	—	—	—	0.50	2.00	2.50	6.00
F CK	52.00	78.50	97.00	+	+	+	+	+	+	+
P EX	—	—	—	0.25	0.75	2.00	6.00	13.50	20.00	25.50
P CK	82.00	96.00	+	+	+	+	+	+	+	+

註（1）C. T. F. P. EX CK 與表 1. 代號同。
（2）一：示胞子未發芽。
（3）＋：示胞子發芽後菌絲佈滿於培養基表面。

由上表觀察，供試各菌類胞子在放射狀菌層（EX）上培養 4 天以內很少有發芽者，而對照區（CK）則在 3 天內幾乎全部發芽，至培養 10 天後（EX）各試驗組之發芽率仍然很低。

討　　論

有關洋菇堆肥微生物方面之研究，國內外學者頗多（1.2.3.4.6.7.9.10.11），Kligman 在1950年已發現 *Actinomycetes* 在洋菇堆肥製作後醱酵時，可以大量產生，且對洋菇之生長有所助益 (8)。Waksman 在1950年亦發表 *Actinomycetes* 對許多細菌及眞菌類均有抗生作用 (12)。Bloudeau 於1959年報告，在 50～60°C 進行後醱酵，常可發現 *Streptomyces* 和 *Micromonospora* 兩類好熱性放射菌，據其觀察及經驗，認爲此種微生物對洋菇堆肥之醱酵，及洋菇菌絲之生長均爲有利，若堆肥中無此種微生物生長，往往洋菇之產量不高，且將有許多種病害發生 (5)。

本試驗將分離所得之放射菌 *Micromonospora* sp. 在 P D A 培養基上，經 24 小時 45°C 定溫培養，然後在此放射菌層上接種洋菇 *Agaricus bisporus*, *Chaetomium* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp. 等菌類之菌絲在 25°C 下培養，發現此放射菌層對洋菇菌絲生長稍有促進的現象，但對其他供試菌類的菌絲生長却稍有抑制的現象（如表 1）。若將此放射菌在 45°C 經 48 小時培養後，再接種培養各供試菌類時，則又發現此放射菌層對洋菇菌絲生長稍有抑制生長現象，但對其他供試菌類菌絲之抑制生長力顯示更强，在 4 天時除 *Fusarium* sp. 稍可生長外，其他菌類之菌絲均無法伸展，其中尤以 *Trichoderma* sp. 受到最嚴重之抑制（表 2），而 *Trichoderma* sp. 在自然界中生長繁殖最快，是在洋菇堆肥中爲害洋菇菌絲生長最嚴重菌類之一，若能在洋菇堆肥製作後醱酵上妥善利用，則對洋菇生長當有所裨益。

爲探討本試驗之放射菌，在培養 48 小時後，是否由於菌層太厚致供試菌類無法正常吸取培養基內之營養物而生長不良，乃以劃線培養法（如圖一、二）測定放射菌對各供試菌類是否確有阻礙生長之現象，結果發現對洋菇菌絲生長有很明顯的促進生長作用，而對其他供試菌類則確有阻礙生長的現象，其中尤以 *Trichoderma* sp. 最爲明顯。由此可以證明本放射菌對各供試菌類除因菌層太厚影響水份及養份吸收外，尚具有某種抗生力，確實可阻礙其他菌類之生長。本試驗爲了解供試菌類孢子在放射菌層上發芽的情形，發現各供試菌類在 P D A 培養基（CK）上，一天內幾乎全部發芽，而在放射菌層上十天內一般發芽率都很低（表 3，圖四），一般洋菇栽培下種後十天左右菌絲就可長滿於菌床表面而佔生長上之優勢，故在洋菇堆肥中，只要有大量之放射菌，則雖有供試菌類之存在，亦不致迅速蔓延爲害，此與 Waksman (12) 及 Bloudeau (5) 兩氏發現所得的結果極爲吻合。

本試驗又可自圖 三 察出 *Chaetomium* sp. 及 *Trichoderma* sp. 在生長有放射菌之培養基上，幾乎不長子囊果與胞子，對減少該病菌孢子之傳播上已獲得良好效果，其中以 *Chaetomium* sp. 在生長有放射菌的培養基上，本不形成子囊果者，若遇有生長的洋菇菌絲時，則又可恢復子囊果的形成，似可證明放射菌可以使 *Chaetomium* sp. 在該培養基上得不到形成子囊果所需之必需養份，而當再遇到洋菇菌絲時，又可自洋菇菌絲中吸取其所需之養份而再形成子囊果。由上述各項結論，得知本試驗分離所得之放射菌只能抑制供試有害菌類之生長，尚不能達到殺菌之作用，故在今後堆肥製作應用上，似應大量培養放射菌加速生長，使其控制有害菌類的數量（Population），促使洋菇菌絲加速生長，再以洋菇生長强勢的原理以達到預防病菌侵害之目的。

參 考 文 獻

1. 胡躋賢、胡開仁，1970，洋菇堆肥中分解性微生物之研究，臺灣區洋菇試驗研究及生產改進計畫報告，第一集 p.111—118。
2. 胡開仁、秦曉芬，1969，堆肥中纖維素分解菌之作用，臺灣區洋菇試驗研究及改進計畫報告，第二集p.23—32。
3. 蘇遠志等1969，堆肥發酵過程中微生物作用之研究，臺灣區洋菇試驗研究及生產改進計畫報告，第二集 p.1—9。
4. 郭孟祥等 1969，堆肥後發酵與微生物相互關係之研究，臺灣區洋菇試驗研究及生產改進計畫報告，第二集 p.10。
5. Bloudeau, H. R. 1959 Etude ed certains actinomycetes se devloppant au cours de"La Pasteurisation"du fumier. Leur action sur le developpement ulterieur du champignon de couche. Mushroom Science IV. p. 153—175.
6. Bels-Koning, H. C. 1962 Preliminary note on the analysis of the composting Process. Mushroom Science V. p. 30—38.
7. Christensen, W. M. 1950 Use of Penicillin waste Products for mushroom composts. Mushroom Science 1. p. 64—66.
8. Kligman, A. M. 1950 Handbook of Mushroom Culture p. 120—135. Business Press INC., Lancaster, Pennsylvania.
9. Lambert, E. B. 1950 Comments on twenty years of research in mushroom culture. Mushroom Science I. p. 7—8.
10. Seth Pope et, 1962 Production of Compost By Thermophili c Fungi. Mushroom Science V. p. 123—126.
11. Stanek, M. 1968 Effect of cellulose-decompoting microorganisms on the growth of mushroom. Mushroom Science VII. p. 170.
12. Waksman, S. A. 1950 The Actinomycetes p. 107—123. Waltham, Mass., U. S. A.,Published by the Chromcia Company.

INVESTIGATION OF GROWTH RELATIONSHIPS BETWEEN *Micromonosporus* sp. AND *Agaricus bisporus* AND SEVERAL FUNGI IN COMPOST

By

K. J. Hu, S. F. Song and M. Y. Hsu

Summary

This experiment is to investigate, during composting and peak-heating period, the relationship between *Micromonosporus* sp., *Agaricus bisporus* and other 4 fungi growth including *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Chaetomium* sp., *Fusarium* sp., which are harmful to mushroom growth in compost, so as to make improvement in mushroom composting.

A species of *Micromonosporus* sp., was isolated from fermenting compost. By measuring the mycelial growth and spore germination of *Micromonosporus* sp., *Agarocus bisporus* and harmful *Penecillium* sp., *Trichoderma* sp., *Chaetomium* sp., *Fusarium* sp., it was found that *Micromonosporus* sp. do increase the growth of the other harmful fungal mycelium. Especially for *Trichoderma* sp., the inhibition was the strongest. In the spore germination test of fungal spore on *Micromonosporus* sp. colony layer, it was found that under 25°C in 10 days there are only few spores could germinate, while on PDA media (ck) the germination rate could reach 90% in 2 days, besides, the mycelia spread fast. So, it seems that if we could possibly apply a large amount of *Micromonosporus* sp. during the composting period, it will be a great success in mushroom disease control.